WELTORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM Internationales Būro

INTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

(51) Internationale Patentklassifikation 5:

(11) Internationale Veröffentlichungsnummer:

WO 92/18520

C07H 19/207, 19/19, A61K 31/70

A1

(43) Internationales

Veröffentlichungsdatum:

29. Oktober 1992 (29.10.92)

(21) Internationales Aktenzeichen:

PCT/EP92/00712

(22) Internationales Anmeldedatum:

31. März 1992 (31.03.92)

(30) Prioritätsdaten:

P 41 11 730.1

10. April 1991 (10.04.91)

DE

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US): KNOLL AKTIENGESELLSCHAFT [DE/DE]; Knollstrasse, D-6700 Ludwigshafen (DE).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): KLUGE, Michael [DE/DE]; Am Huebaum 14, D-6701 Kallstadt (DE). SCHOTT, Herbert [DE/DE]; Hartmeyerstrasse 14, D-7400 Tuebingen (DÈ).

(74) Anwalt: SCHWEISS, Werner; BASF Aktiengesellschaft, Carl-Bosch-Strasse 38, D-6700 Ludwigshafen (DE).

(81) Bestimmungsstaaten: AT (europäisches Patent), BE (europäisches Patent), CA, CH (europäisches Patent), DE (europäisches Patent), DE (europäisches Patent), DE (europäisches Patent), ES (europäisches Patent), FR (europäisches Patent), GB (europäisches Patent), GR (europäisches Patent), IT (europäisches Patent), IV, LU (europäisches Patent), MC (europäisches Patent), NL (europäisches Patent) SE (europäisches Patent) ropäisches Patent), US.

Veröffentlicht

Mit internationalem Recherchenbericht.

(54) Title: NOVEL CYTARABINE DERIVATIVES, THEIR PRODUCTION AND USE

(54) Bezeichnung: NEUE CYTARABIN-DERIVATE, IHRE HERSTELLUNG UND VERWENDUNG

(57) Abstract

The description relates to novel cytarabine derivatives of formula (I) in which R1, R2 and R3 have the meanings given in the description and their production. The compounds are suitable for the treatment of diseases.

Es werden neue Cytarabin-Derivate der Formel (1), worin R1, R2 und R3 die in der Beschreibung angegebene Bedeutung besitzen, sowie deren Herstellung beschrieben. Die Verbindungen eignen sich zur Bekämpfung von Krankheiten.

LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Code, die zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

	,			MN	Mongolci
ΑT	Österreich	FI	Finaland	MR	Mauritaniun
ΑU	Australien	FR	Frankreich	MW	Malawi
BB	Barbados	. GA	Gabon Vereinigtes köngreich	NL.	Næderlande
BE	Belgien	GB	Gunea	NO '	Norwegen
BF	Burkina Paso	GN	Greehenland	PL	Polen
BG	Bulgarien	GR	Ungarn	RO	Rumänien
BJ	Benin	HU IE	Irland	RU -	Russische Föderation
BR	Brasilien	IT	Italien	SD	Sudan
CA	Kanada	-	Іаран Іаран	SE	Schweden
CF	Zentrale Atrikanische Republik	KP JP	Demokratische Volksrepublik Korea	SN	Senegal
CG	Kongo	KR	Republik Korea	รบ	Soviet Union
CH	Schweiz	Ll	Liechtenstein	TD	Tschad
CI	Côte d'Ivone		Sri Lanka	TG	Togo
CM	Kameron	LK	=	US	Vereinigte Staaten von Amerika
CS	Tschechoslowakci	LU	Luxemburg Monaco		
DE*	Deutschland	MC			
DK .	Dänemark	MG	Madagaskar		
ES	Soumen	ML	Mali		

Neue Cytarabin-Derivate, ihre Herstellung und Verwendung

Beschreibung

5 Die vorliegende Erfindung betrifft neue Cytarabin-Derivate, deren Herstellung sowie deren Verwendung bei der Bekämpfung von Krankheiten.

AraC (= Cytarabin = 4-Amino-1-β-D-arabinofuranosyl-2(1H)-pyrimidinon bzw. 1-β-D-Arabinofuranosylcytosin, Merck-Index 11. Auflage, Nr. 2790) ist ein in der Chemotherapie von Krebserkrankungen bewährtes Zytostatikum. Durch die im Körper anwesende
Cytosindesaminase wird das AraC jedoch schnell desaminiert und
damit unwirksam. Zur Erzielung einer therapeutischen Wirkung muß
es daher in hohen Dosen appliziert werden, die für den Patienten
mit unangenehmen Nebenwirkungen verbunden sind. Hinzukommt, daß
Tumorzellen, denen eine Kinase-Aktivität fehlt, AraC nicht zum
wirksamen 5'-Triphosphat phosphorylieren und somit gegen AraC
resistent sind.

20

25

Um die zu schnelle enzymatische Desamininierung zeitlich zu verzögern, wurde die Aminogruppe des Cytosinrestes bisher mit Acyl-Schutzgruppen maskiert (Int. J. Cancer 37, 149 (1986)). Die hierbei erhaltenen N4-AcylAraC-Derivate zeigten aber, auch wenn sie in Form von Liposomen appliziert wurden, im Vergleich zu underivatisiertem AraC keine verbesserte zytostatische Wirkung. Die N4-Acylamidbindung dieser AraC-Prodrugs konnte die enzymatische Desaminierung in vivo nur kurzfristig verzögern. Abgesehen davon ist N4-Acyl-AraC bei AraC-Resistenz unwirksam.

30

35

Der AraC-Resistenz von Tumorzellen versuchte man dadurch entgegenzuwirken, daß AraC oder AraC-5'-Monophosphat kovalent an natürliche Phopholipide gekuppelt wurde (DE 83 00 2391). Von diesen AraC-Prodrugs erhoffte man sich, daß sie von AraC-resistenten Tumorzellen aufgenommen und im Zellinnern in das aktive AraC-5'-Monophosphat enzymatisch gespalten würden. Prodrugs, in denen AraC oder AraC-5'-Monophosphat an natürliche Esterphospholipide gekuppelt vorliegen und die in Form von Liposomen appliziert wurden, erfüllten nur teilweise die Erwartungen.

5

10

Nachteilig bei diesen Prodrugs ist, daß die zum Aufbau der Prodrugs verwendeten natürlichen Lipidbausteine zu schnell enzymatisch gespalten werden, so daβ diese Phospholipid-AraC-Prodrugs zu schnell zu inaktiven Derivaten metabolisiert werden.

Es wurden nun neue Cytarabin-Derivate gefunden, die effektiver gegen eine enzymatische Desaminierung geschützt sind und die sich zur Therapie von AraC-resistenten Tumorzellen eignen.

Gegenstand der Erfindung sind Cytarabin-Derivate der Formel I

worin

25

ein Wasserstoffatom, einen $C_{14}-C_{24}-Alkylrest$, der gegebenen-R1 falls 1 bis 2 Doppelbindungen enthalten und verzweigt sein 15 kann, einen aliphatischen C₂-C₂₄-Acylrest, der gegebenenfalls 1 bis 2 Doppelbindungen enthalten und verzweigt sein kann, oder den Acylrest der Benzoesäure oder Anissäure und

R3, die gleich oder verschieden sein können, Wasserstoff-20 R², atome, C_1 - C_{24} -Alkylreste, die gegebenenfalls 1 bis 2 Doppelbindungen enthalten und verzweigt sein können, aliphatische C_{2-24} -Acylreste die gegebenenfalls 1 bis 2 Doppelbindungen enthalten und verzweigt sein können,

bedeuten, wobei jedoch höchstens 2 der Reste R¹ bis R³ Wasserstoffatome sein können und $R^1 \neq H$ ist, wenn R^2 und R^3 Acylreste bedeuten.

20

Als Alkylreste kommen für \mathbb{R}^1 insbesondere Hexadecyl und Octadecyl in Betracht.

Ist R1 ein Acylrest, so sind folgende Reste bevorzugt:
5 Palmitoyl, Oleoyl, Behenoyl.

Für R2 und R3 sind unverzweigte Alkyl- und Acylreste mit 1 bis 20 C-Atomen bevorzugt.

- 10 Die neuen Cytarabin-Derivate der Formel I lassen sich herstellen, indem man
 - a) aus Verbindungen der Formel II

- worin R1, R2 und R3 die angegebene Bedeutung haben und R4 einen 2- oder 4-Chlorphenylrest darstellt, den chlorierten Phenylrest R4 abspaltet oder
 - b) eine Verbindung der Formel III

worin R^1 , R^2 und R^3 die angegebene Bedeutung haben, oxidiert.

Die Abspaltung des chlorierten Phenylrestes gemäß a) gelingt besonders gut, wenn man die Verbindungen II 5 bis 15 h in einem wäßrig-organischen Lösungsmittel bei Raumtemperatur mit Tetrabutylammoniumfluorid stehen läßt.

5

Die Oxidation der Verbindungen III gelingt besonders gut bei Raumtemperatur mit Jod in organisch wäßrigen Lösungsmitteln.

Die so erhaltenen Reaktionsprodukte können durch Chromatographie 10 gereinigt werden.

Die als Ausgangsmaterial verwendeten Verbindungen der Formel II lassen sich durch Kondensation von Verbindungen der Formel IV

15 worin R^2 , R^3 und R^4 die angegebene Bedeutung haben, mit Verbindungen der Formel V $(R^1 \neq H)$

mit Hilfe von Kondensationsmitteln in an sich bekannter Weise herstellen.

10

Die Verbindungen der Formel III erhält man durch Umsetzen einer Verbindung der Formel VI

worin R² und R³ die angegebene Bedeutung haben, mit einer Verbindung der Formel V (R¹ \neq H) in Gegenwart eines Säurechlorids und anschließende Oxidation in bekannter Weise. Falls ein oder zwei der Reste R¹, R² und R³ Wasserstoff sein sollen, müssen in einer entsprechenden Acyl-Verbindung Acylreste gegen Wasserstoff ausgetauscht werden.

Die Verbindungen IV, V und VI sind bekannt oder lassen sich nach bekannten Verfahren herstellen (Chem. Pharm. Bull. <u>26</u>, 981 (1978), Nucleic Acid Res. Symposium Series No. 18, 189 (1987)).

Weiter können durch die Anzahl, Länge, Art und Lage der jeweiligen Substituenten in den erfindungsgemäßen AraC-Derivaten die amphiphilen Eigenschaften überraschenderweise in weiten Grenzen variiert werden. Die amphiphilen AraC-Derivate sind somit in wäßrigen Puffersystemen löslich und/oder in Form von Liposomen dispergierbar. Je nach der amphiphilen Eigenschaft des 20 AraC-Derivats ist die Liposomenbildung ohne und/oder mit weiteren Lipidkomponenten erreichbar. Zur Liposomenbildung können alle an sich bekannten Verfahren der Liposomendarstellung verwendet werden wie beispielsweise Ultraschall, Gelchromatographie, Detergenzdialyse. Die jeweils eingeführten lipophilen Reste 25 beeinflussen außerdem maßgeblich die Größe und Stabilität der Liposomen, die sich aus den jeweiligen amphiphilen AraC-Derivaten bilden.

30 Durch die gezielte Einführung von lipophilen Resten läßt sich aber nicht nur der amphiphile Charakter der erfindungsgemäßen AraC-Derivate gezielt steuern, sondern überraschenderweise auch die zytostatische Wirkung von AraC entscheidend optimieren.

Die neuen Verbindungen lassen sich wie das AraC selbst gegen maligne Erkrankungen der blutbildenden Zellen einsetzen, insbesondere gegen akute Leukämien und chronisch myeloische Leukämie im Blastenschub.

5

10

15

Die zytostatische Wirkung der amphiphilen AraC-Derivate läßt sich in sogenannten Immunoliposomen überraschenderweise zur gezielten Zerstörung von bestimmten Tumorzellen nutzen. Hierzu werden die amphiphilen AraC-Derivate zusammen mit weiteren Lipidkomponenten in Form von Liposomen in physiologischen Puffersystemen dispergiert. An funktionellen Gruppen der Liposomenmembran werden monoklonale Antikörper immobilisiert. Die so erhaltenen Immunoliposomen werden in vitro bevorzugt von den Tumorzellen aufgenommen, die das dem Antikörper entsprechende Antigen exprimieren. Die Folge dieses Zell-targetings ist die selektive Zerstörung der jeweiligen Zieltumorzelle in einem Gemisch verschiedener Zellen.

Die Wirkung der neuen Verbindungen läβt sich in folgender Versuchsanordnung zeigen:

20

25

DBA/2-Mäusen wurden L1210 Tumorzellen intravenös injiziert, wodurch eine Leukämie simuliert wurde. Am Tag 3 und 7 nach der Tumorzell-Injektion wurde den tumortragenden Tieren verschiedene Dosierungen der Testsubstanz oder Lösungsmittel verabreicht. Insgesamt ergab sich folgende Einteilung in die einzelnen Versuchsgruppen:

- Kontrollgruppe (Lösungsmittel)
- i.v. Applikation (2 Dosierungen)
- 30 i.p. Applikation (2 Dosierungen)
 - i.v. AraC als Referenz (2 Dosierungen)
 - i.p. AraC als Referenz (2 Dosierungen)

Als Parameter für den Therapieerfolg wird die mediane 35 Überlebenszeit der einzelnen Versuchsgruppen (10 Tiere pro Gruppe) berechnet.

In diesen Versuchen zeigten die neuen Verbindungen eine bessere Wirkung als AraC.

Die neuen Verbindungen sollen in einer Dosierung von etwa 40 - 1000 mg pro Patient und Tag eingesetzt werden.

Beispiel 1

5

Darstellung von D, L-4-(1-Hexadecylamino)1- β -D-5'-0-(1, 2-di-0-pal-mitoyl-glycero-3-phospho)arabinofuranosylcytosin

a. Herstellung des Ausgangsmaterials

10

15

5 g (10,7 mmol) 4-(1-Hexadecylamino)-1- β -D-arabinofuranosyl-cytosin wurden zusammen mit 6,8 g (10,7 mmol) D,L-1,2-Di-0-palmitoyl-glycero-3-hydrogenphosphonat in 50 ml wasserfreiem Pyridin mit 6,6 ml (53,5 mmol) Pivalinsäurechlorid versetzt und unter Feuchtigkeitsausschluß 10 min bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde die Lösung im Vacuum zum Sirup konzentriert, der dann zweimal mit ca. 40 ml Toluol abrotiert wurde.

b. Herstellung des Endprodukts

20

Der gemäß a) erhaltene Rückstand wurde mit 200 ml einer 0,2 M Jodlösung (Tetrahydrofuran/Pyridin/Wasser, 90/5/5, V/V/V) versetzt und 40 min bei Raumtemperatur belassen. Nach der Oxidation wurde der Reaktionsansatz mit einem Gemisch aus 500 ml Chloroform und 500 ml 2%iger wäßriger NaHSO₃-Lösung ausgeschüttelt. Die organische Phase wurde über Na₂SO₄ getrocknet und im Vacuum zum Sirup konzentriert.

Der Sirup wurde mit ca. 80 ml Chloroform aufgenommen und an einer Kieselgelsäule in Chloroform/Methanol-Gradienten fraktioniert. Die Fraktionen des gewünschten Produkts, die mit Chloroform/Methanol (9/1, V/V) die Säule verließen, wurden vereinigt, zur Trockene konzentriert und anschließend aus Methanol kristallisiert. Hierbei wurden 3,7 g eines weißen Pulvers erhalten, das auf der Kieselgelplatte in System Chloroform/Methanol (7/3, V/V) einen RF-Wert von 0,46 aufwies.

Beispiel 2

Darstellung von D-4-(1-Hexadecylamino)-1- β -D-5'-0-(1,2-di-0-pal-mitoyl-glycero-3-phospho)arabinofuranosylcytosin

5

Das Beispiel 1 wurde wiederholt, jedoch mit D-1,2-Di-0-palmitoyl-glycero-3-hydrogenphosphonat als Ausgangsmaterial. Man erhielt 4,4 g Produkt.

10 Beispiel 3

Darstellung von D,L-4-(Palmitoyl)-1- β -D-5'-O-(1,2-di-0-palmitoyl-glycero-3-phospho)arabinofuranosylcytosin

15

a) Herstellung des Ausgangsmaterials

8 g (16 mmol) 4-(Palmitoyl)-1-β-D-arabinofuranosylcytosin wurden zusammen mit 16 g (21 mmol) 1,2 D,L-Di-O-palmitoyl-glycero-3-(2-chlorphenyl)phosphat in 50 ml wasserfreiem Pyridin mit 11 g (36 mmol) 2,4,6-Triisopropylbenzolsulfonsäurechlorid und 9 ml N-Methylimidazol versetzt und unter Feuchtigkeitsausschluß 1 h bei Raumtemperatur geschüttelt. Anschließend wurde der Ansatz im Vacuum zum Sirup konzentriert, der dann zweimal mit ca. 150 ml Toluol abrotiert wurde.

Der Rückstand wurde in 200 ml Chloroform aufgenommen und an einer Kieselgelsäule im Chloroform/Methanol-Gradienten fraktioniert. Die Fraktionen des gewünschten Produkts, die mit Chloroform/Methanol (95/5, V/V) die Säule verließen, wurden vereinigt, zur Trockne konzentriert und aus Methanol kristallisiert. Sie ergaben 9,5 g eines weißen Pulvers.

b. Herstellung des Endprodukts

35

40

30

Zur Abspaltung des 2-Chlorphenylrestes wurde das isolierte Kondensationsprodukt mit einem Überschuß von 3 Äquivalenten Tetrabutylammoniumfluorid x $3H_2O$ bei Raumtemperatur ca. 6 h behandelt. Hierzu verwendete man eine 0,05 M Tetrabutylammoniumfluoridlösung in Tetrahydrofuran/Pyridin/Wasser (8/1/1, V/V/V).

Zur Reinigung wurde der Reaktionsansatz an einer Kieselgelsäule im Chloroform/Methanol-Gradienten fraktioniert. Die Fraktionen des gewünschten Produkts wurden konzentriert und aus Diethylether kristallisiert. Man erhielt 5 g eines weißen Pulvers, das auf der Kieselgelplatte im System Chloroform/Methanol (4/1, V/V) einen Rf-Wert von 0,20 aufwies.

Beispiel 4

Darstellung von D-4-(Palmitoyl)-1-β-D-5'-0-(1,2-di-0-palmitoyl-glycero-3-phospho)arabinofuranosylcytosin

Das Beispiel 3 wurde wiederholt, jedoch mit D-1,2-Di-0-palmitoyl-glycero-3-(2-chlorphenyl)-phosphat als Ausgangsmaterial. Die 15 Ausbeute betrug 5,9 g.

Beispiel 5

Darstellung von D,L-1- β -D-5'-0-(1-Oktadecyl-glycero-3-phospho)arabinofuranosylcytosin

a) Herstellung des Ausgangsmaterials

Durch Kondensation von D,L-1-0-Octadecyl-2-0-acetyl-glycero3-Hydrogenphosphonat (in Analogie zu Beispiel 1) oder von
D,L-1-0-Octadecyl-2-0-acetyl-glycero-3(2-chlorophenyl)phosphat
(in Analogie zu Beispiel 3) mit 4-(Benzoyl)-1-β-D-arabinofuranosylcytosin wurde zunächst D,L-4-(Benzoyl)-1-β-D-5'-0-(1-0-octadecyl-2-0-acetyl-glycero-3-phospho)arabinofuranosylcytosin
synthetisiert und anschließend an Kieselgel chromatographiert.

b) Herstellung des Endprodukts

Das gemäß a) erhaltene Kondensationsprodukt wurde mit einem
35 überschuß methanolischen Ammoniak ca. 24 h bei Raumtemperatur
verschlossen aufbewahrt. Dann wurde das Lösungsmittel im Vacuum
abgezogen und der Rückstand an einer Kieselgelsäule im Chloroform/Methanol-Gradienten fraktioniert. Fraktionen, die das

gewünschte Produkt enthielten, wurden konzentriert. Der Rückstand, der aus Aceton/Wasser kristallisiert wurde, ergab ein weißes Pulver, das im System Chloroform/Methanol (1/1, V/V) einen R_F -Wert von 0,19 aufwies.

5

In analoger Weise erhält man D-1- β -D-5'-O-(1-Oktadecyl-glycero-3-phospho)arabino-furanosylcytosin

Beispiel 6

10

Darstellung der Liposomenpräparate

Für die Herstellung der Liposomendispersion wurden pro ml Chloroform-Methanol (1/1, V/V); jeweils 100 mg Soja-Phosphatidylcholin, 10 mg Cholesterol, 1 mg α -Tocopherol, 7 mg 15 N2-Palmitoyl-N6-succinoyl-L-lysin und 12 mg D, L-4-(Palmitoyl)- $1-\beta-D-5'-O-(1,2-di-O-palmitoyl)-glycero-3-phospho)$ arabinofuranosylcytosin gelöst. 0,6 ml dieser Lipidstammlösung wurden in einem Reagenzglas durch Verblasen mit Luft in einen Lipidfilm überführt, der anschließend ca. 1~h bei 50°C im Vakuum getrocknet 20 wurde. Der Lipidfilm wurde mit 3 ml 10 mM PBS (0,9 % NaCl und 10 mM NaH_2PO_4 , pH 7,3) versetzt und mit Hilfe einer Mikrospitze eines Desintegrators 30 min mit 40 Watt beschallt. Hierbei bildete sich eine opaleszente Liposomendispersion, die für die folgende Reaktion verwendet wurde. 25

Beispiel 7

Darstellung der Immunoliposomen

30

35

1,2 nmol eines Antikörpers wurden als Lyophilisat mit 50 μ l des Liposomenpräparats aus Beispiel 6 und 7 mg (27 μ mol) N(3-Dimethylaminopropyl)-N'-ethyl-carbodiimid X HCl (EDC) versetzt und durch Zugabe von 30 μ l PBS (pH 1) auf pH 4 eingestellt. Im einstündigen Abstand wurden noch zweimal jeweils 7 mg EDC zugegeben. Nach ca. 5 h Rühren bei Raumtemperatur wurde der Reaktionsansatz auf eine ULTROGEL ACA 22-Säule aufgetragen und mit PBS (pH 7,4) fraktioniert. Fraktionen deren Absorptionsverhältnisse mit den Werten des eingesetzten Liposomenpräparats übereinstimmen, wurden vereinigt und zum Zell-targeting verwendet.

Patentansprüche

Cytarabin-Derivate der Formel I

5 worin

10

- ein Wasserstoffatom, einen C_{14} - C_{24} -Alkylrest, der gegebenenfalls 1 bis 2 Doppelbindungen enthalten und verzweigt sein kann, einen aliphatischen C_2 - C_{24} -Acylrest, der gegebenenfalls 1 bis 2 Doppelbindungen enthalten und verzweigt sein kann, oder den Acylrest der Benzoesäure oder Anissäure und
- R2, R3, die gleich oder verschieden sein können, Wasserstoffatome, C₁-C₂₄-Alkylreste, die gegebenenfalls 1 bis 2 Doppelbindungen enthalten und verzweigt sein können, aliphatische C₂-C₂₄-Acylreste die gegebenenfalls 1 bis 2 Doppelbindungen enthalten und verzweigt sein können,
- bedeuten, wobei jedoch höchstens 2 der Reste R^1 bis R^3 20 Wasserstoffatome sein können und $R^1 \neq H$ ist, wenn R^2 und R^3 Acylreste bedeuten.
 - Verfahren zur Herstellung der Cytarabin-Derivate der Formel I gemäß Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß man
 - a) aus Verbindungen der Formel II

worin R^1 , R^2 und R^3 die angegebene Bedeutung haben und R^4 einen 2- oder 4-Chlorphenylrest darstellt, den chlorierten Phenylrest R^4 abspaltet oder

5 b) eine Verbindung der Formel III

worin $\ensuremath{\mathsf{R}}^1$, $\ensuremath{\mathsf{R}}^2$ und $\ensuremath{\mathsf{R}}^3$ die angegebene Bedeutung haben, oxidiert.

 Cytarabin-Derivate der Formel I gemäß Anspruch 1 zur Verwendung bei der Bekämpfung von Krankheiten.

15

20

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No. PCT/EP 92/00712

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER					
Int.C1. C 07 H 19/207, C 07 H 19/19, A 61 K 31/70 According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC					
B. FIEL	DS SEARCHED				
Minimum do	ocumentation searched (classification system followed by	y classification symbols)			
	Int.Cl.5: C 07 H, A 61 K				
Documentati	Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched				
Electronic da	ta base consulted during the international search (name	of data base and, where practicable, search t	erms used)		
		•			
C. DOCU	MENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT				
Category*	Citation of document, with indication, where a	ppropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.		
Х	DE, Al, 3 543 346 (BORYUNG PHAR 12 June 1986, see abstract; cla		1–3		
P,A	CHEMICAL ABSTRACTS, vol. 116, No. 2 March 1992, (Columbus, Ohio, University of 5-fluorouridine and arabino prodrugs", see page 866, ref. Tetrahedron Lett. 1991, 32(45)	1-3			
Р,А	CHEMICAL ABSTRACTS, vol. 116, N 30 March 1992 (30.03.92), (Colu CH. Mc GUIGAN et al. "Trans-est yield novel masked phosphate de cancer agent araC", see page 95 Bioorg.Med.Chem. Lett. 1991, 1	1–3			
A	CHEMICAL ABSTRACTS, vol. 96, No (Columbus, Ohio, USA), A. ROSOW		1–3		
Furthe	r documents are listed in the continuation of Box C.	See patent family annex.			
"A" docume	categories of cited documents: nt defining the general state of the art which is not considered particular relevance	the principle of incory underlying the invention			
"E" earlier document but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other		considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone			
<u>-</u>	eason (as specified) nt referring to an oral disclosure, use, exhibition or other	combined with one of more other such documents, such combination			
	nt published prior to the international filing date but later than ity date claimed	being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family			
Date of the actual completion of the international search Date of mailing of the international search report			ch report		
20 May 1992 (20.05.92)		30 June 1992 (30.06.92)			
Name and mailing address of the ISA/		Authorized officer			
European Patent Office					
Facsimile No	n.	Telephone No.			

iii. DOCU	III. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT (CONTINUED FROM THE SECOND SHEET)					
Category *	Citation of Document, with indication, where accropnets, of the resevent passages	Relevant to Claim No				
	5'-alkyl phosphate esters of l-Beta-D-ara- binofuranosylcytosine and its N4-acyl and 2,2'-anhydro-3'- -0-acyl derivatives as potential prodrugs", see page 19, ref. No: 45 867m, J.Med. Chem. 1982, 25(2), 171-8.					
. !						
		-				
		ļ				
-						
		į				
	·					
		;				
İ		į				
	er e e					
		1				
ļ		:				
		:				
		1				
		· · · · · · · · · · · · · · · · · · ·				

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 92/00712

1. KLASSIFIKATION DES ANMELDUNGSGEGENSTANDS (bei mehreren Klassifikationssymbolen sind alle anzugeben)6					
Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPC) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPC					
Int.CI ⁵ C 07 H 19/207, C 07 H 19/19, A 61 K 31/70					
II. RECHERCHIERTE SACHGEBIETE .					
Recherchierter Mindestprüfstoff/					
Klassifikationssystem Klassifikationssymbole					
Int.CI. 5 C 07 H, A 61 K	·				
Recherchierte nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Sachgebiete fallen ⁸					
IIL EINSCHLÄGIGE VERÖFFENTLICHUNGEN ⁹					
Art* Kennzeichnung der Veröffentlichung ¹¹ ,soweit erforderlich unter Angabe der maßgeblichen Teile ¹²	Betr. Anspruch Nr. 13				
X DE, A1, 3 543 346 (BORYUNG PHARMACEUTICAL CO LTD.) 12 Juni 1986	1-3				
(12.06.86),					
siehe Zusammenfassung;					
Ansprüche.					
P.A CHEMICAL ABSTRACTS, Band 116,	1-3				
Nr. 9, erschienen					
02. März 1992 (02.03.92)					
(Columbus, Ohio, USA), CH. LE BEC et al. "Synthesis					
of lipophilic phosphate					
triester derivatives of					
5-fluorouridine and					
arabinocytidine as anticancer					
prodrugs",	·				
siehe Seite 866, Referat Nr.					
84 088j, Tetrahedron Lett.					
10					
Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen 10: "A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist und mit der Anmeldung nicht koverständnis des der Erfindung zu oder der ihr zugrundeliegenden Theo	um veröffentlicht worden illidiert, sondern nur zum grundeliegenden Prinzips				
"I " Veröffentlichung die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch "Y" Veröffentlichung von besonderer Re					
zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das veror- fentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht ge- keit beruhend betrachtet werden nammen beröffentlichung beleut werden soll oder die aus einem	r auf erfinderischer Tatig-				
te Erfindum kann nicht als auf er	finderischer Tätigkeit De-				
"O" Veröffentlichung, die sich auf eine mundliche Ottenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht und diese Verbindung für ruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für					
"P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldeda- tum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffent- licht worden ist					
IV. BESCHEINIGUNG					
Datum des Abschlusses der internationalen Recherche Absendedatum des internationalen Recherchenberichts					
20 Mai 1992 3 0 . 06. 92					
Internationale Recherchenbehörde Unterschrift des bevollmächtigten Bedie					
Europäisches Patentamt	elle van der Haas				

	-2-	
	Plant 2)	Betr. Anspruch Nr.
	CHLÄGIGE VERÖFFENTLICHUNGEN (Fortsatzung von Blatt 22) Kennzeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der maßgeblichen Teile	
-	1991, 32(45),6553-6.	
	CHEMICAL ABSTRACTS, Band 116,	1-3
, A	Nr. 13, erschlenen 30 März 1992 (30.03.92)	! !
	(Columbus, Onio, USA), CH. Mc GUIGAN et al. "Trans-	
	yield novel masked phosphate derivatives of the anticancer	
	agent araC" siehe Seite 951, Referat-Nr. 129 484d, Bioorg.Med.Chem. Lett. 1991, 1(11), 607-10.	
A .	CUEMICAL ABSTRACTS, Band 96,	1-3
•	Nr. 7, 15 Februar 1982 (15.02.82) (Columbus, Ohio, USA), A. ROSOWSKY et al.	
	phate esters of 1-Beta-D-ara- binofuranosylcytosine and its M4-acyl and 2,2'-anhydro-3'-	
	-0-acyl derivatives as potential prodrugs", siehe Seite 19, Referat-Nr. 45 867m, J.Med. Chem. 1982,	
	25(2), 171-8.	
		·.

ANHANG

ANNEX

JUNEXE

. zuw internationalen Recherchenbericht über die internationale Patentanmeldung Nr.

to the International Search Report to the International Patent Application No.

au rapport de recherche inter-national relatif à la demande de brevet international no

PCT/EP 92/00712 SAE 57890

Diese Angaben dienen nur zur Unter-richtung und erfolgen ohne Gewähr.

In dieses Anhang sind die Mitglieder der Patentfamilien der im obenge- members relating to the patent document cited in the above-mentioned internationalen Recherchenbericht mational search report. The Office is national search report. The Office is This Annex lists the patent family La présente annexe indique les members relating to the patent documents membres de la famille de prevets in no way liable for these particulars which are given merely for the purpose of information.

memores de la familie de prevets relatifs aux documents de brevets cités dans le rapport de recherche inter-national visée ci-dessus. Les reseigne-ments fournis sont donnés à titre indica-tif et n'engagent pas la responsibilité de l'Office.

Is Recherchenbericht angeführtes Patentdokument Patent document cited in search report Document de brevet cité dans le rapport de recherche	Datum der Mitglied(er) der Veröffentlichung Patentfamilie Publication Fatent family date member(s) Date de Membre(s) de la publication famille de brevets		Datum der Veröffentlichung Publication date Date de publication		
DE A1 3543346	12-06-86	KR B1 B800093 ES A1 549587 ES A1 8706163 ES A1 8706163 ES A1 8706163 ES A1 8574428 ES A1 2574411 FR B1 2574411 FR B1 2574411 FR B1 2168350 GB B2 61263996 JP B4 63038360 JP B4 630383347 DE C2 549558 ES A1 8701192 FR B1 2574412 FR B1 8530115 GB B2 21683531 JF B4 1029800 KR B1 8800094	23-02-88 01-06-87 16-08-88 11-06-88 14-08-88 14-08-88 14-08-88 13-10-88 13-10-88 13-10-88 13-12-88 13-13-88 13-		

This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning Operations and is not part of the Official Record

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

□ BLACK BORDERS
□ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
□ FADED TEXT OR DRAWING
□ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
□ SKEWED/SLANTED IMAGES
□ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
□ CRAY SCALE DOCUMENTS
□ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
□ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

OTHER:

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.